

INFEZIONE DA *ESCHERICHIA COLI* PRODUTTORE DI TOSSINA SHIGA/VEROCITOSSINA (STEC/VTEC)

1. Diagnosi clinica e definizioni di caso

Agente eziologico	<i>E. coli</i> produttori di Shiga-tossina (<i>STEC</i>) (anche detta Verocitotossina, da cui l'acronimo <i>VTEC</i>) ad effetto citotossico. I sierogruppi maggiormente diffusi sono: O157, O111, O26, O103, O121 e O145.
Sospetto clinico	
Criteri clinici	Periodo d'incubazione 1-6 giorni, in base al patotipo Diarrea da <i>STEC/VTEC</i> • Diarrea, spesso emorragica • Dolori addominali Sindrome emolitica uremica (<i>SEU</i>) Indipendentemente dalla presenza o meno di sintomatologia gastroenterica prodromica, qualsiasi persona che presenti un blocco renale acuto e almeno una delle seguenti due manifestazioni: • anemia emolitica microangiopatica (Hb < 10 g/l, emazie frammentate o inferiori ai valori soglia stabiliti dal WHO) • trombocitopenia (plt < 150.000/microlitro); • insufficienza renale acuta o evidenza di danno renale – proteinuria, ematuria anche in assenza di alterazione della creatininemia
Sospetto epidemiologico	
Criteri epidemiologici	Almeno una delle cinque seguenti correlazioni epidemiologiche: • Trasmissione interumana (contatto con persone con diarrea) • Esposizione a una fonte comune • Esposizione ambientale • Trasmissione da animale a uomo (soprattutto bovini, pecore, capre) • Esposizione ad alimenti o acqua da bere contaminati - Carni poco cotte o crude di bovino (carne macinata, hamburger) - Latte crudo o formaggi a latte crudo - Insaccati freschi - Ortaggi

Caso possibile di *SEU* associata a *STEC/VTEC*: Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici per la *SEU* → **NOTIFICA**

Caso probabile di *STEC/VTEC*: Qualsiasi paziente che soddisfi i criteri clinici e con almeno un link epidemiologico o con criteri di laboratorio soddisfatti, in assenza di criteri clinici → **NOTIFICA**

2.1 Conferma di laboratorio Diagnostica di prima istanza

Tipo di campione: FECI

Modalità di prelievo	• Raccolte dopo l'emissione, dopo l'esordio della malattia e prima dell'assunzione di farmaci. • Raccolte in quantità sufficiente (3,5gr/5-10ml). • Il materiale va raccolto in recipienti puliti e trasferito in contenitori con tappo a vite correttamente contrassegnati.
Modalità di trasporto e conservazione	• Le feci dovrebbero pervenire in laboratorio entro 1-2 ore dall'emissione, altrimenti conservate alla temperatura di 4-6° C per 24 ore in terreni di trasporto o soluzioni saline tamponate.
Tipo di esame	• Test molecolare Real time PCR per ricerca geni <i>stx1/vtx1</i>, <i>stx2/vtx2</i>, <i>eae</i>.

Tipo di campione: SIERO (solo per casi SEU)

Modalità di prelievo	• 5 ml in provette tappo rosso (senza anticoagulante)
Modalità di trasporto e conservazione	• Temperatura di refrigerazione
Tipo di esame	• Immunodosaggio per ricerca anticorpi anti Lps

Tipo di campione: CEPPO BATTERICO

Modalità di prelievo	• Ceppo batterico <i>E. coli</i> isolato in appositi terreni
Modalità di trasporto e conservazione	• I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C.
Tipo di esame	• Metodiche di biologia molecolare • PFGE, MLST, NGS

Criteri di laboratorio

Almeno uno dei seguenti criteri:

- isolamento/coltura di *Escherichia coli* che produce la tossina Shiga/verocitossina o contiene geni *stx1/vtx1* o *stx2/vtx2*
- identificazione diretta dell'acido nucleico dei geni *stx1/vtx1* o *stx2/vtx2*
- identificazione diretta della tossina Shiga/verocitossina libera nelle feci.

Solo per la SEU il seguente criterio può essere utilizzato come criterio di laboratorio per confermare la presenza di STEC/VTEC:

- risposta anticorpale sierogruppo specifica all'*Escherichia coli* (LPS)

In assenza di sintomi clinici:

- isolamento di *Escherichia coli* O157 non fermentante il sorbitolo (senza test della tossina o dei geni che producono la tossina)

Caso confermato → NOTIFICA

Qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e di laboratorio.

2.2 Conferma di laboratorio

Tipo di campione: CEPPPO BATTERICO per tipizzazione molecolare

Modalità di prelievo	• Ceppo batterico E.coli isolato in appositi terreni
Modalità di trasporto e conservazione	• I ceppi batterici vanno trasportati al laboratorio nel più breve tempo possibile e conservati alla temperatura di 4°C.
Tipo di esame	• Metodiche di biologia molecolare • PFGE, MLST, NGS

INFEZIONE DA *ESCHERICHIA COLI* PRODUTTORE DI TOSSINA SHIGA/VEROCITOSSINA (STEC/VTEC) – Note tecniche

Diagnostica di prima istanza

Ricerca antigene/tossine: Utilizzo di metodi immunoenzimatici o immunocromatografici per la determinazione della presenza della shiga tossina con determinazione dell'antigene comune o determinazione qualitativa delle tossine shiga (Stx1 e Stx2) in estratti di campioni fecali in soluzione fisiologica e brodo di arricchimento di colture fecali.

Diagnosi sierologica di infezione da EHEC: ricerca anticorpi anti-LPS E.coli O157, O26, O103, O111, O145 (met. ELISA).

Identificazione diretta dell'acido nucleico dei geni *stx1/vtx1* o *stx2/vtx2* da campioni di feci: utilizzo di metodiche di biologia molecolare (PCR o Real time PCR) che si basano sull'estrazione del DNA genomico dei batteri cresciuti su terreni colturali liquidi o solidi mediante bollitura (PCR) o purificazione con resine non immobilizzate (real time PCR), amplificazione delle sequenze geniche mediante primers specifici e valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel di agarosio e lettura al transilluminatore (PCR) oppure per elaborazione automatica con formazione di curve di fluorescenza (Real Time PCR).

Diagnostica di seconda istanza

Identificazione diretta dell'acido nucleico dei geni *stx1/vtx1* o *stx2/vtx2* da ceppo batterico: utilizzo di metodiche di biologia molecolare (PCR o Real time PCR) che si basano sull'estrazione del DNA genomico dei batteri cresciuti su terreni colturali liquidi o solidi mediante bollitura (PCR) o purificazione con resine non immobilizzate (real time PCR), amplificazione delle sequenze geniche mediante primers specifici e valutazione della positività o negatività del campione mediante elettroforesi su gel di agarosio e lettura al transilluminatore (PCR) oppure per elaborazione automatica con formazione di curve di fluorescenza (Real Time PCR).

PFGE, MLST, NGS: l'utilizzo della PFGE e della MLST consente, mediante il confronto dell'impronta del DNA, di capire se gli isolati di E. coli possono derivare dallo stesso clone cellulare. Le metodiche NGS consentono il sequenziamento dell'intero genoma ottenendo dati utili per la tipizzazione e caratterizzazione degli agenti eziologici, risultando fondamentali per stabilire eventuali correlazioni epidemiologiche.

[Versione 1.1]



DOWNLOAD DA WEB



Il materiale documentale del Progetto Zodiac, diffuso da Sanità Pubblica Veterinaria, è coperto da Licenza Creative Commons Attribuzione 4.0 Internazionale. [Based on a work at <http://spvet.it/zodiac.html>]